

Оптимизация методики лиофильной сушки для репортерных штаммов

Научный руководитель – Остерман Илья Андреевич

Кряквин М.А.¹, Лукьянов Д.А.²

1 - Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова, Факультет биоинженерии и биоинформатики, Москва, Россия, *E-mail: maxim.kryakvin@yandex.ru*; 2 - Сколковский институт науки и технологий, Москва, Россия, *E-mail: dlukianov@icloud.com*

С каждым годом растет число устойчивых к антибиотикам микроорганизмов. В 2019 году число смертей от болезней, вызванных резистентными к современным лекарствам бактериями по планете превысило миллион [1]. Поэтому важно находить новые вещества, способные ингибировать рост микроорганизмов.

Репортерные системы упрощают поиск веществ с антибактериальной активностью. Для упрощения использования данных систем возникла необходимость в подборе условий обработки репортерного штамма с целью длительного хранения или транспортировки. Для работы использовался штамм с плазмидой pDualRep2, позволяющий по флуоресценции определить тип стресса, которому подвергается бактерия - повреждение ДНК, вызывающее SOS-ответ, или остановка рибосомы, активирующая триптофановый оперон [3].

В качестве отправной точки были выбраны 5 вариантов растворов для сушки и 3 варианта предварительной заморозки [2]. С лучшим из них был поставлен длительный опыт хранения (2,5 месяца) при охлаждении до +4*С и при комнатной температуре, показавший, что в таких условиях штамм выживает в достаточных количествах для образования газона на чашке с агаризованной средой и сохраняет репорные свойства. Для осуществления теста с таким штаммом не требуется дополнительной подготовки и достаточно просто растворить его в жидкой питательной среде.

В дальнейшем возможно также использовать методику для репортеров, чью активность можно детектировать невооруженным глазом, что открывает возможности для массового поиска новых потенциальных антибиотиков добровольцами.

Автор выражает благодарность Остерману И. А. и Лукьянову Д. А. за руководство и помощь в обучении.

Данное исследование было профинансировано Министерством науки и высшего образования Российской Федерации (соглашение № 075-15-2021-1085).

Источники и литература

- 1) Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *Lancet*. 2022 Feb 12;399(10325):629-655. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02724-0. Epub 2022 Jan 19. PMID: 35065702; PMCID: PMC8841637.
- 2) C.A. Morgan et al. Preservation of micro-organisms by drying // *Journal of Microbiological Methods*, Volume 66, Issue 2, 2006, 183-193, DOI: 10.1016/j.mimet.2006.02.017, PMID: 16632005.
- 3) Osterman IA et al. Sorting Out Antibiotics' Mechanisms of Action: a Double Fluorescent Protein Reporter for High-Throughput Screening of Ribosome and DNA Biosynthesis Inhibitors. // *Antimicrob Agents Chemother*. 2016 Nov 21;60(12):7481-7489. doi: 10.1128/AAC.02117-16. PMID: 27736765; PMCID: PMC5119032.